Rev. Écol. Biol. Sol, 1981, **18** (3) : 319-338.

Relations microflore-microfaune dans la grotte de Sainte-Catherine (Pyrénées ariégeoises)

II. — Le régime alimentaire de *Tomocerus minor* (Lubbock) et *Tomocerus problematicus* Cassagnau (Insectes Collemboles) (1)

PAR

G. KILBERTUS * et G. VANNIER **

* *E.R. 204, C.N.R.S., Laboratoire de Microbiologie de Nancy I, 54037 Nancy*
** *E.R. 204, Laboratoire d'Écologie générale du Muséum National, 91800 Brunoy (France)*

INTRODUCTION

L'action thématique sur programme en écophysiologie animale sur les transferts hydriques comparés chez deux espèces de Collemboles Tomoceridae, *Tomocerus minor* (Lubbock) épigée et trogloxène et *Tomocerus problematicus* Cassagnau troglobie, a permis de mesurer les modifications écophysiologiques apparues chez les individus vivant en permanence dans le domaine souterrain.

En systématique, les deux espèces se différencient par un détail de structure tégumentaire à l'extrémité de l'organe de saut (THIBAUD et VANNIER, 1978). Macroscopiquement les deux espèces ont la même allure générale, avec cependant une coloration cuticulaire, légèrement plus claire, gris métallisé, chez la forme cavernicole.

Il a fallu recourir à des techniques microgravimétriques et respirométriques fines pour apprécier des différences significatives au niveau de la physiologie de la transpiration et de la respiration. Les mesures de trans-

(1) Recherche effectuée dans le cadre de l'A.T.P. n° 3573 du C.N.R.S. Transferts hydriques chez deux espèces épigée et cavernicole d'Insectes Collemboles, 1978-1980.
Reçu le 2-3-81.

piration ont montré que l'espèce troglobie est moins économe de ses réserves hydriques corporelles que l'espèce épigée, mais avait cependant conservé sa capacité de réguler son flux d'évaporation corporelle (VANNIER, 1977 a et b). De même, les mesures du métabolisme ont révélé une plus faible consommation horaire d'oxygène chez les formes cavernicoles (VANNIER et VERDIER, 1981). Ces différences même significatives démontrent que l'espèce *Tomocerus problematicus* n'est pas très marquée par les conditions de la vie souterraine et qu'elle a partiellement conservé toutes ses aptitudes physiologiques à vivre en surface aux côtés de l'espèce *Tomocerus minor*. D'autres observations effectuées sur le développement post-embryonnaire, la croissance pondérale et linéaire n'ont pas non plus permis de séparer de façon décisive les deux espèces (THIBAUD, 1977 et 1980).

Même si les résultats de l'analyse écophysiologique n'ont pas mis en évidence de transformations irréversibles, il est néanmoins permis de conférer à *Tomocerus problematicus* le statut d'espèce troglobie. En effet, au cours de nombreuses prospections faunistiques (THIBAUD, communication personnelle) à l'intérieur comme à l'extérieur des massifs karstiques des Pyrénées Centrales, il n'a jamais été possible de trouver cette espèce de Tomoceridae ailleurs que dans le réseau souterrain.

Pour compléter nos recherches biologiques et écophysiologiques nous avons ajouté un autre volet relatif au comportement trophique de ces deux espèces de Collemboles, depuis l'entrée de la grotte de Sainte-Catherine (Ariège) où seule se trouve l'espèce *Tomocerus minor*, jusqu'au puits terminal à moins 80 mètres sous terre où vit uniquement *Tomocerus problematicus*, en passant par une zone intermédiaire (escalier) où les deux espèces se côtoient sur le même substrat.

Dans un article précédent, nous avons recherché les principales sources alimentaires d'origine microbiologique dans les différents substrat fréquentés par les deux espèces de Tomoceridae (KILBERTUS et SCHWARTZ, 1981). Chaque biotope renferme une source de nourriture particulière pouvant, en plus des conditions topographiques et climatiques particulières de la grotte, expliquer la répartition des deux espèces que nous avons déjà précisée lors d'un inventaire exhaustif (THIBAUD et VANNIER, 1978).

I. — ÉTUDE DU RÉGIME ALIMENTAIRE *in situ*

1. Matériel et méthodes.

Nos observations ont eu lieu en mai 1979 et ont eu pour cadre la grotte de Sainte-Catherine, commune de Balaguères, département de l'Ariège. Une description complète de la cavité est rappelée dans un article précédent (THIBAUD et VANNIER, 1978). Nous présentons ici une coupe succinte de la grotte dans le but de préciser les endroits de prospections faunistiques et d'analyses microbiologiques des substrats (Fig. 1) .

Trois sites ont retenu notre attention à l'intérieur de la grotte. Dans la salle 1, près de l'ouverture de la grotte, un éboulis dominé par un aven qui constitue un réceptacle pour les entrées de matière organique produite à l'extérieur par une chênaie clairsemée à 585 mètres d'altitude. A cet endroit de la grotte où le rayonnement solaire pénètre pendant quelques heures au cours de la journée, une couche de litière de

feuilles en décomposition repose sur l'éboulis ; entre les pierres de la terre remontée par les Lombrics constitue un sol brun sur lequel se développent de luxuriantes mousses et quelques plantes ombrophiles. C'est le biotope exclusif de *Tomocerus minor*.

A la limite des salles 1 et 2, il existe un escalier en bois décomposé par les Champignons. C'est une zone limite dans la grotte où la lumière du jour vient encore diffuser très faiblement. Ce biotope particulier abrite à la fois *Tomocerus minor* et *Tomocerus problematicus* ; il s'agit de la limite supérieure atteinte par l'espèce cavernicole.

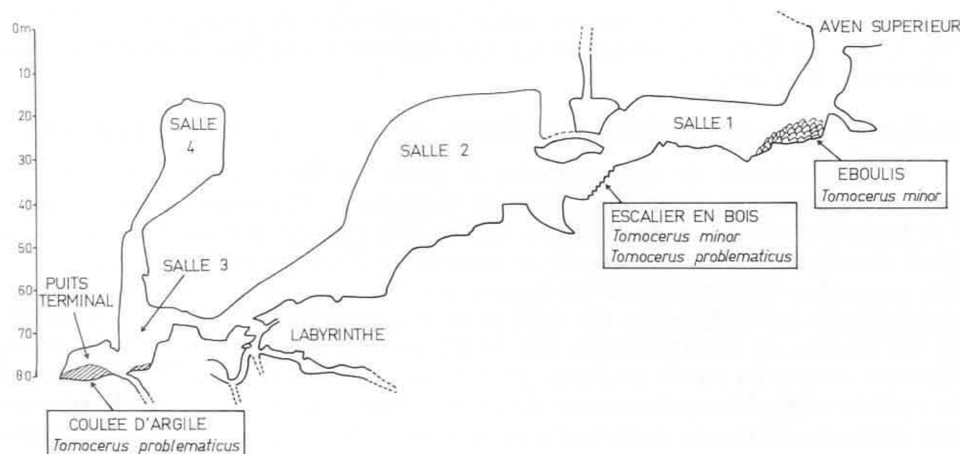


FIG. 1. — Coupe schématique de la grotte de Sainte-Catherine (Ariège) montrant les trois sites où ont été récoltées les deux espèces de Collemboles (modifiée *in* THIBAUD et VANNIER, 1978).

Dans la salle 3, au fond du puits terminal à moins 80 mètres de profondeur, c'est le domaine de *Tomocerus problematicus* qui vit sur une coulée d'argile parsemée de quelques amas de guano tombé de la voûte où niche une colonie de Cheiroptères.

Le biotope de la salle 1 présente des analogies avec un sol de surface telle que la rendzine forestière que nous étudions à Brunoy (Essonne) et qui est le milieu de prédilection de *Tomocerus minor*. C'est pourquoi nous avons inclus quelques observations sur les habitudes alimentaires des individus de cette espèce provenant, soit directement de notre station forestière, soit à partir d'élevage entretenu sur des souches pures de Champignons isolés des fèces.

Une dizaine d'animaux de chaque espèce, venant d'être capturés, ont été aussitôt fixés à l'acide osmique additionné d'une goutte de Teepol pendant 1 h 30, puis déshydratés à l'éthanol et enfin inclus dans l'épon. Les coupes ultrafines à travers le tube digestif ont été contrastées au citrate de plomb en vue de leur examen au microscope électronique à transmission (M.E.T.).

Les fèces produites par les deux espèces ont été recueillies sur papier filtre, et après fixation à l'acide osmique pendant 1 h 30, ont été déshydratées à l'acétone avant d'être desséchées au point critique, puis métallisés à l'or-palladium pour les observer au microscope électronique à balayage (M.E.B.).

Les mêmes opérations ont été menées sur les individus de *Tomocerus minor* provenant de la rendzine forestière située dans le parc du laboratoire d'Écologie générale à Brunoy.

2. **Résultats.**

a) *Tomocerus minor* dans une station forestière à Brunoy.

Au cours d'une précédente étude (KILBERTUS et VANNIER, 1979) nous avons constaté que les fèces de *Tomocerus minor* capturé dans la litière d'une charmaie étaient essentiellement formées par un enchevêtrement d'hyphes de champignons. Souvent les filaments mycéliens apparaissent intacts et présentent parfois des repousses intrahyphales (Pl. I, Ph. 1). En M.E.B. les fèces sont souvent constituées par des amas cylindriques de fragments mycéliens (Pl. I, Ph. 3). D'autres observations ont également confirmé que *Tomocerus minor* est fongivore.

b) *Tomocerus minor* maintenu en élevage sur couche pures de champignons.

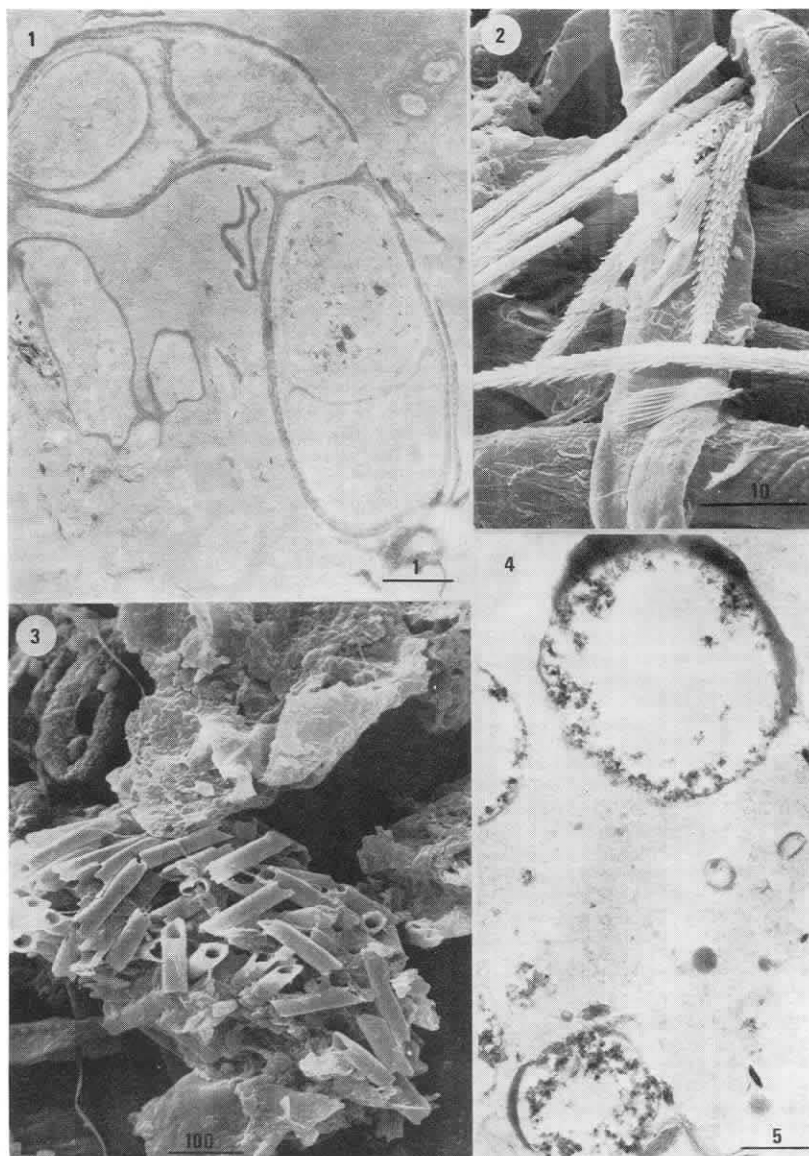
Les isolements de champignons à partir de fèces d'animaux capturés *in situ* ont permis d'obtenir 3 espèces fongiques : *Cladosporium herbarum*, *Trichoderma viride* et *Penicillium sp.* Le Collembole mis en présence des deux dernières souches refuse de se nourrir et l'élevage périclite rapidement. En revanche, *Cladosporium herbarum* est bien accepté et les animaux se développent normalement ; les hyphes sont entièrement digérées, les spores et les résidus de conidiophores persistent sous la forme d'une enveloppe où figurent encore en partie quelques granules de mélanine (Pl. I, Ph. 4). Lorsque la culture d'Hyphomycètes cesse de se développer, il est fréquent de trouver des éléments chitineux dans les fèces prouvant ainsi que les animaux ingèrent leur propre exuvie lorsque les conditions deviennent défavorables (Pl. I, Ph. 2).

c) *Tomocerus minor* dans la salle 1 de la grotte de Sainte-Catherine.

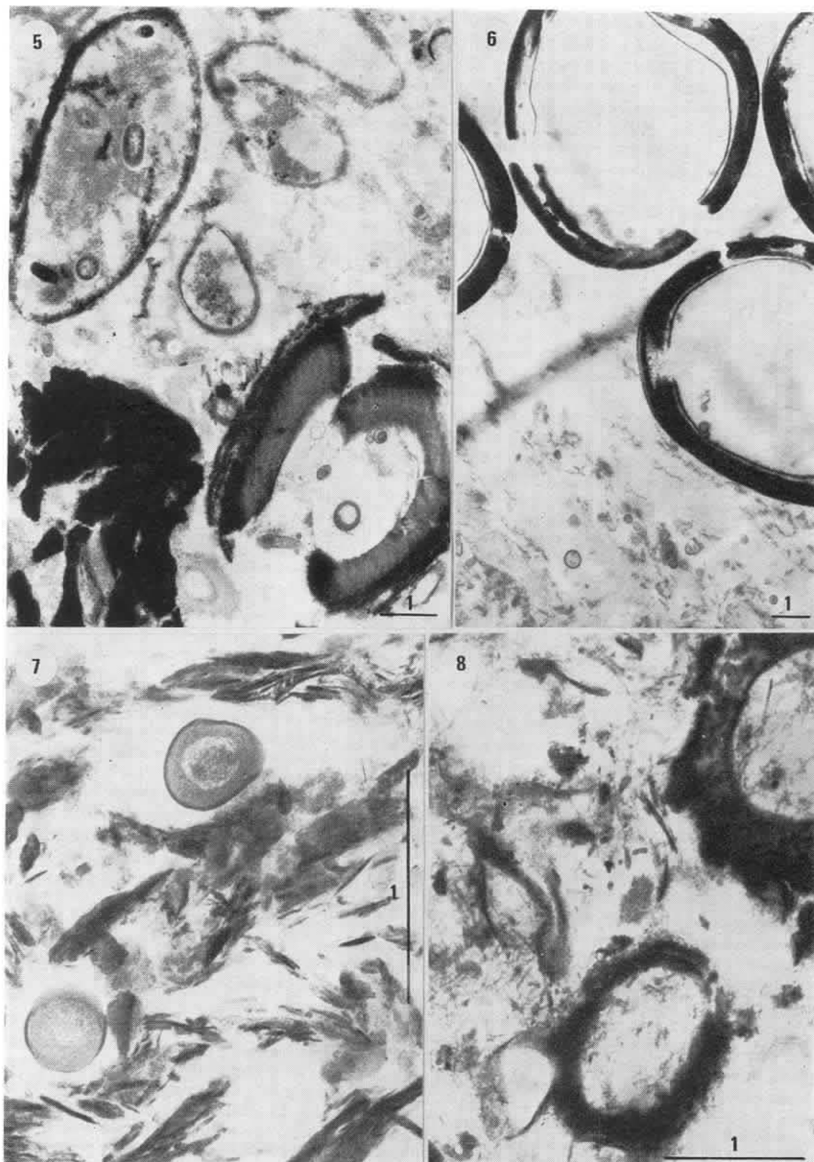
Les Collemboles vivant dans la litière et les mousses recouvrant l'éboulis trouvent à cet endroit une nourriture riche et variée comparable à celle des humus forestiers. Dans leur tractus digestif, on retrouve des Champignons, des bactéries, quelques résidus végétaux et exceptionnellement des argiles ; ces dernières n'étant présentes qu'en très faibles quantités au milieu de substances amorphes (Pl. II, Ph. 5).

Comme chez ses congénères des milieux forestiers, l'alimentation de base de *Tomocerus minor* est donc essentiellement constituée par du mycélium et des spores. En M.E.T., les hyphes apparaissent dénaturés, leur protoplasme est très altéré et souvent il ne subsiste plus des cellules fongiques que des figures myéliniques ou des résidus de parois plus ou moins noyés dans une trame fibrillaire (Pl. II, Ph. 5).

A cette activité lytique des enzymes digestifs de l'animal s'ajoute celle des bactéries. Elle prolonge la biodégradation en décomposant la paroi des champignons. En l'absence de ces procaryotes, cette dernière modification n'est jamais perçue, ce qui laisse supposer que le régime alimentaire de *Tomocerus minor* est essentiellement constitué par le contenu cytoplasmique des hyphes. Enfin, lorsque les bactéries sont présentes, leur matériel nucléaire est bien différencié, prouvant qu'elles ne subissent que très peu les effets de la digestion animale et qu'elles se développent activement dans ce milieu. Cette remarque est importante, car elle confirme le rôle particulier de la faune



Pl. I. — Ph. 1 : mycelium avec repousses intrahyphales à l'intérieur des fèces de *Tomocerus minor* vivant dans la litière d'une charmaie. — Ph. 2 : résidu d'exuvie dans les fèces de *Tomocerus minor* élevé sur culture pure de *Cladosporium herbarum* lorsque le champignon décline. — Ph. 3 : fragments mycéliens à la surface des fèces de *Tomocerus minor* venant d'être capturé dans la litière de forêt. — Ph. 4 : aspect du contenu intestinal de *Tomocerus minor* élevé sur culture pure de *Cladosporium herbarum* ; résidus de spores *(échelles en micromètres)*.



Pl. II. — Ph. 5 : contenu digestif de *Tomocerus minor* vivant dans la salle 1 ; présence de résidus fongiques et de bactéries. — Ph. 6 : contenu digestif de *Tomocerus minor* vivant sur l'escalier ; basidiospores vides. — Ph. 7 : contenu digestif de *Tomocerus problematicus* vivant dans la salle 3 ou sur l'escalier ; présence de nombreux feuillets d'argile et de bactéries. — Ph. 8 : contenu digestif de *Tomocerus problematicus* vivant sur l'escalier ; parois sporales dégradées (*échelles en micromètres*).

dans la dissémination des germes ; ceux-ci bénéficient de la protection intestinale, de la concentration en métabolites et surtout de la mobilité de l'animal qui leur permet, à travers les fèces, de coloniser rapidement des substrats encore vierges. La présence bactérienne dans le tube digestif est à bénéfice réciproque ; il ne s'agit certes pas d'une symbiose comme chez certains insectes xylophages, mais en s'attaquant aux parois fongiques, les bactéries libèrent une quantité d'aliments que l'animal ne pourrait cataboliser avec son propre équipement enzymatique. En dernier lieu, on peut constater que les parois végétales ne sont que peu ou pas décomposées. Cela confirme les observations précédentes et prouve que c'est au cours de la recherche de champignons que l'animal ingère ces éléments végétaux.

d) *Tomocerus minor* de l'escalier dans la grotte de Sainte-Catherine.

L'étude du matériel ligneux qui constitue l'escalier menant à la salle 2 a permis de signaler la présence abondante de champignons et relativement peu de bactéries (KILBERTUS et SCHWARTZ, 1981).

L'examen du tube digestif de *Tomocerus minor* en M.E.T. confirme les résultats précédents. Les animaux recherchent préférentiellement le mycélium et le contenu de l'intestin est essentiellement constitué par des parois de spores dont l'ultrastructure rappelle celle des Basidiomycètes (SOKOLSKI *et al.*, 1976). Toutes ces loges sont vides de tout contenu cytoplasmique et les parois sont brisées ; elles baignent dans une substance de nature fibrillaire contenant de petites vésicules (Pl. II, Ph. 6).

A la limite des conditions de vie épigée, *Tomocerus minor* de l'escalier conserve ses préférences alimentaires, c'est-à-dire des spores et du mycélium fongique comme les individus vivant en surface dans les litières de forêt.

Les fèces renferment parfois des fragments ligneux accompagnés de phyllosilicates, ainsi que des microorganismes divers ou même des parois sporales plus ou moins altérées. Il peut s'agir d'une invasion secondaire aussitôt après le dépôt des matières fécales entraînant des néotransformations sous l'action de germes extérieurs.

e) *Tomocerus problematicus* de l'escalier dans la grotte de Sainte-Catherine.

Le biotope de l'escalier est partagé avec *Tomocerus minor* qui est plus abondant vers la partie supérieure alors que *Tomocerus problematicus* fréquente davantage la partie basse plus sombre. Nous avons surtout prélevé les individus des deux espèces dans la partie moyenne de l'escalier où les populations se rencontrent et exploitent ensemble les ressources alimentaires du milieu.

Le contenu intestinal de *Tomocerus problematicus* diffère profondément de celui décrit précédemment chez *Tomocerus minor* (Pl. II, Ph. 7 et 8). Les feuillets d'argiles y sont très abondants (Pl. II, Ph. 7) et les résidus de spores fongiques, lorsqu'ils sont encore présents, apparaissent déchiquetés et très osmiophiles ; ils sont généralement en contact avec des fibrilles plus ou moins allongées, éléments que l'on rencontre également au niveau des argiles.

La même observation des fèces au M.E.T. confirme ces résultats ; les minéraux argileux sont toujours présents en abondance et les débris de spores fongiques sont toujours noyés dans un réseau fibrillaire.

Le régime alimentaire de *Tomocerus problematicus* a donc tendance à s'orienter vers la géophagie. La microflore fongique est présente sous la forme d'enveloppes déchiquetées qui peuvent correspondre à un remaniement mécanique des parois sporales excrétées par *Tomocerus minor*. L'ingestion d'argile pose à nouveau le problème de la valeur nutritive des phyllosilicates chez les animaux cavernicoles.

f) *Tomocerus problematicus* au fond du puits terminal de la grotte de Sainte-Catherine.

A cet endroit profond de la grotte, on ne rencontre que l'espèce *Tomocerus problematicus* dont les représentants sont souvent difficiles à capturer en raison de leur très faible densité. Cette grande dispersion des individus sur la coulée d'argile est sans doute liée à la pauvreté du milieu en matières nutritives.

L'examen au M.E.B. de fèces ne laisse jamais entrevoir d'éléments mycéliens en surface comme c'est le cas des fèces produites par *Tomocerus minor*. Dans quelques cas on a noté la présence d'exuvies caractéristiques des fèces d'animaux vivant en captivité et subissant des carences alimentaires. L'ingestion de la mue est souvent pratiquée par les Collemboles comme par de nombreux arthropodes terrestres, en particulier chez les Myriapodes Diplopodes qui récupèrent ainsi les ions calcium dont ils ont besoin pour reconstituer leur nouvelle cuticule (Vannier, 1966).

En M.E.T. le tube digestif renferme des quantités importantes d'argiles et parfois quelques bactéries. On obtient des documents microphotographiques identiques à celui de la figure 7 (Pl. II), pouvant également illustrer le contenu intestinal de *Tomocerus problematicus* de l'escalier.

A l'intérieur même des fèces on distingue parfois la présence d'hyphes et de bactéries vivantes mais dont le développement nous est apparu postérieur au dépôt des déjections sur le papier filtre.

Nous jugeons utile de signaler que la surface cuticulaire des individus peuplant le fond de la grotte est fréquemment couverte de spores fongiques et de bactéries. Ceci démontre à l'évidence le rôle particulier de la faune dans le transport et la survie des microorganismes dans un milieu pauvre en substances énergétiques.

II. — ÉTUDE DU RÉGIME ALIMENTAIRE SUR MODÈLE EXPÉRIMENTAL

Le but de cette expérience est de vérifier la tendance à la géophagie de l'espèce troglobie *Tomocerus problematicus* par rapport à l'espèce litièricole *Tomocerus minor*, en soumettant les animaux à un régime alimentaire alterné, avec ou sans présence d'argile.

1. **Matériel et méthodes.**

Les animaux proviennent de la grotte de Sainte-Catherine (salle 1 pour *Tomocerus minor*, salle 3 pour *Tomocerus problematicus*) et ont été élevés en chambre climatisée à

Brunoy dans des conditions d'humidité et de température voisines de celles régnant dans le milieu cavernicole (100 % H.R. et 10° C). 10 individus de chaque espèce ont été privés de nourriture pendant 7 jours, afin de les placer dans les mêmes conditions physiologiques, comme l'ont proposé JOOSSE et VELTKAMP (1970).

Chaque animal a été ensuite placé dans une cellule d'élevage en plastique (diamètre 3 cm, hauteur 5 cm) dont le fond est recouvert de bentonite hydraté (variété d'argile sélectionnée, du type montmorillonite) et avec pour toute nourriture 30 mg de superlevure en poudre (1).

L'expérience a été menée au laboratoire d'Écologie générale à Brunoy et s'est déroulée pendant une période de 5 mois (du 7 mars 1980 au 26 juillet 1980) à raison d'une surveillance bihebdomadaire du poids de chaque animal.

A chacun des changements de régime alimentaire, un animal pris au hasard dans chaque lot était sacrifié pour analyser en microscopie électronique le contenu du tube digestif selon la procédure décrite au chapitre précédent.

2. Variations pondérales chez les deux espèces en fonction de la nature du substrat.

Les conditions d'élevage des 10 spécimens de *Tomocerus minor* et *Tomocerus problematicus* ont été modifiées cinq fois en respectant la procédure suivante :

— Période A, du 13 mars au 24 avril 1980, bentonite avec 30 mg de superlevure.
— Période B, du 24 avril au 6 mai 1980, bentonite seule.
— Période C, du 6 mai au 29 mai 1980, bentonite et 1 cm² de feuille de charme.
— Période D, du 29 mai au 30 juin 1980, papier filtre humide et 1 cm² de feuille de charme.
— Période E, du 30 juin au 26 juillet 1980, bentonite et 1 cm² de feuille de charme.

Après chaque contrôle microgravimétrique, nous avons estimé les gains et les pertes de poids individuel en pourcentage par rapport au poids frais initial des animaux encore vivants. Les courbes portées sur le graphique de la figure 2 montrent l'évolution de la biomasse moyenne des deux espèces au cours des cinq mois d'expérience. Le tableau I rassemble les données numériques qui marquent la fin de chaque période.

Dès les premiers jours de l'expérience les deux espèces élevées sur argile gagnent du poids. *Tomocerus minor* augmente de poids plus lentement avec un gain de 7,2 %, alors que pendant le même laps de temps *Tomocerus problematicus* voit son poids initial augmenter de 16,3 %.

Après une période de 12 jours sur argile et sans nourriture (B), *Tomocerus minor* perd rapidement du poids et à la fin de cette période de son excédent de poids n'est plus que de 1,6 %. En revanche, *Tomocerus problematicus,*

(1) Composition de la superlevure : levure lactique, levure de bière, phosphate de calcium, gomme arabique. Analyse moyenne pour 100 mg : glucides 32,7 ; protides 44,8 ; lipides 5,2. Valeur calorique pour 100 g : 337 calories.

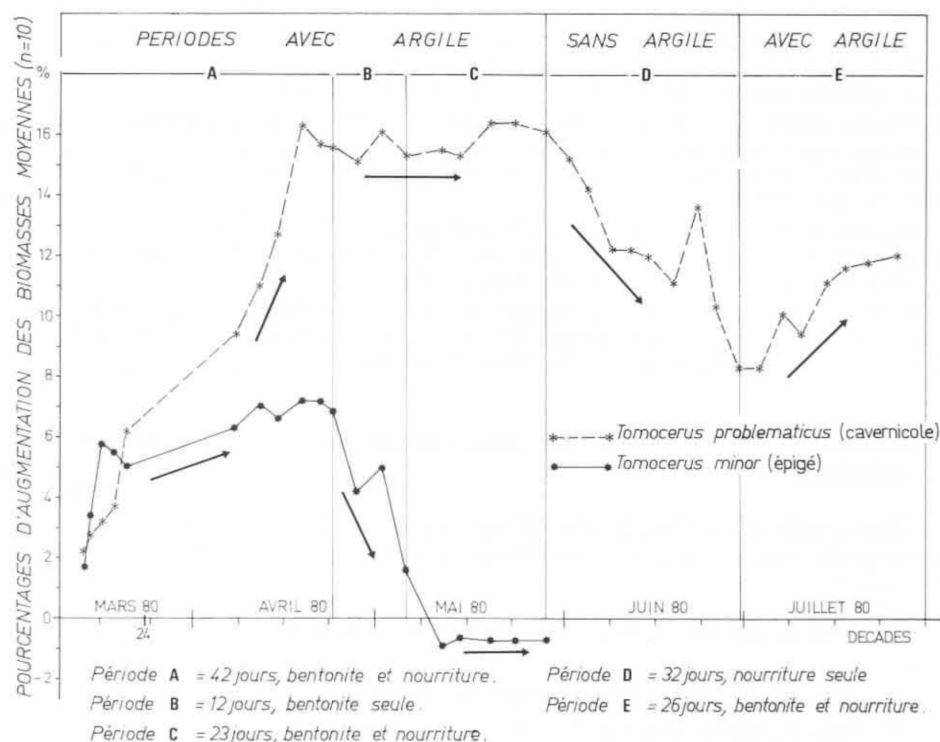


FIG. 2. — Évolution des biomasses moyennes de chaque espèce selon les conditions d'élevage. Illustration du régime à tendance géophagique chez l'espèce cavernicole *Tomocerus problematicus*. Se reporter aux figures 13, 14, 15, 16 de la planche IV.

malgré la suppression de nourriture, garde toujours son poids à un niveau élevé avec un gain de 15,3 %.

Au cours de la période C, les animaux sont élevés sur de l'argile avec de la nourriture. *Tomocerus minor* continue de décliner et enregistre même une perte de poids de 0,7 %. A la fin de cette période, l'expérience est terminée, car la mortalité de cette espèce atteint 83 %. *Tomocerus problematicus* maintient toujours au même niveau son gain de poids avec 16,1 % et la mortalité n'affecte que 40 % des individus.

Pendant la période D, *Tomocerus problematicus* vit sur un milieu holorganique sans argile. Son poids décroît rapidement et après un mois d'expérience les animaux n'ont plus qu'un excédent de poids de 7,3 %.

Au cours de la période E, la présence d'argile dans l'élevage fait remonter le poids moyen de l'espèce cavernicole qui enregistre un gain de 12 %. Après 5 mois d'élevage, le taux de mortalité chez *Tomocerus problematicus* atteint 80 % et les derniers animaux ont été sacrifiés pour être étudiés en microscopie électronique.

TAB. I

Variations pondérales chez les deux espèces de Collemboles selon la nature du substrat. Y = poids frais moyen en milligramme (avec son écart-type) après chaque séquence de l'élevage ; gain et perte exprimés en pourcentage par rapport au poids frais moyen Y_0 des individus vivants au début de l'expérience.

Séquences / Espèces	Fin de la période A	Fin de la période B	Fin de la période C	Fin de la période D	Fin de la période E
Tomocerus minor n = 10	Y_0 = 1,531 mg (0,237)	Y_0 = 1,531 mg (0,237)	Y_0 = 1,528 mg (0,102)	—	—
	Y_A = 1,637 mg (0,248)	Y_B = 1,556 mg (0,229)	Y_C = 1,539 mg (0,180)	—	—
	gain = 6,9 %	gain = 1,6 %	perte = 0,7 %		
Tomocerus problematicus n = 10	Y_0 = 1,486 mg (0,106)	Y_0 = 1,486 mg (0,106)	Y_0 = 1,486 mg (0,106)	Y_0 = 1,488 mg (0,126)	Y_0 = 1,427 mg (0,088)
	Y_A = 1,718 mg (0,127)	Y_B = 1,713 mg (0,142)	Y_C = 1,725 mg (0,136)	Y_D = 1,596 mg (0,111)	Y_E = 1,598 mg (0,118)
	gain = 15,6 %	gain = 15,3 %	gain = 16,1 %	gain = 7,3 %	gain = 12 %

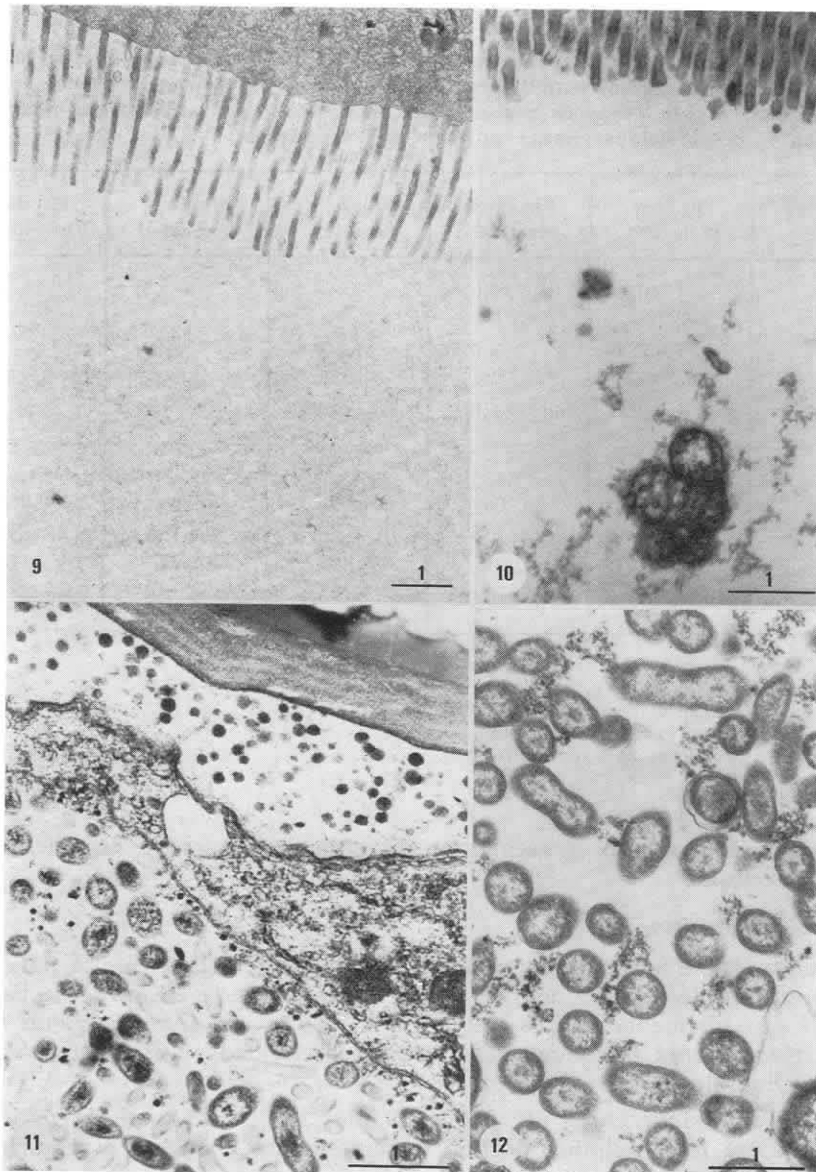
Période A : Argile et nourriture (42 jours).
Période B : Argile seule (12 jours).
Période C : Argile et nourriture (23 jours).
Période D : Nourriture seule (32 jours).
Période E : Argile et nourriture (26 jours).

3. Analyse du contenu intestinal et du substrat d'élevage en microscopie électronique.

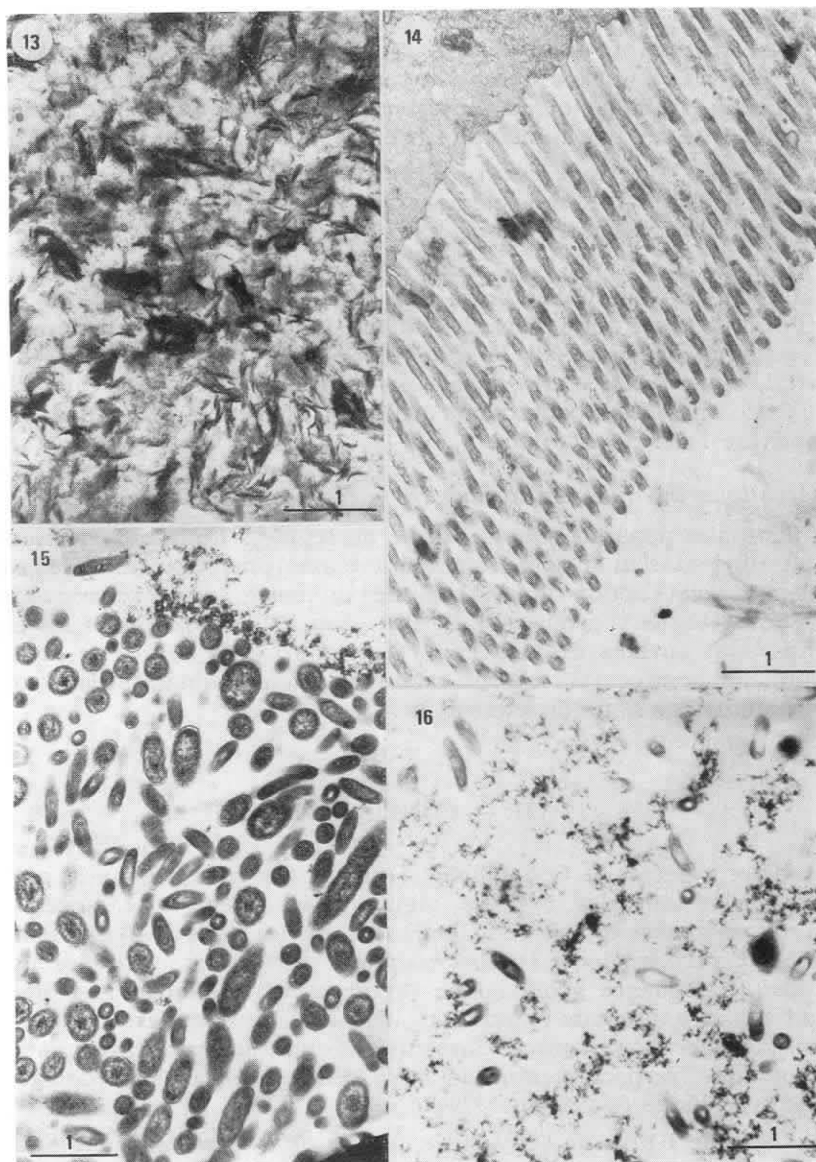
a) *Tomocerus minor.*

L'animal fixé à l'acide osmique le 24 avril 1980, à la fin de la période A, a vécu sur argile additionnée de 30 mg de superlevure. Il présente un tube digestif sans éléments figurés (Pl. III, Ph. 9). On n'y discerne qu'un réseau finement granuleux au contact des villosités intestinales ; aucune trace d'argile n'est observable.

Un second individu a été fixé le 29 mai 1980 à la fin de la période C, lorsque toute la population décline fortement. Les coupes à travers le tube digestif montrent quelques éléments épars, non identifiables, qui ne peuvent être rapportés au type de nourriture proposé à l'animal (Pl. III, Ph. 10). Comme précédemment l'argile est absente dans la lumière du tube digestif. Par contre, le réseau tissulaire sous la cuticule est envahi par de nombreuses bactéries dont la présence peut expliquer le taux élevé de mortalité dans la population (83 %) (Pl. III, Ph. 11 et 12). Cette septicémie généralisée atteint des animaux qui sont certes moribonds mais encore capables de se déplacer et même de sauter.



PL. III. — Ph. 9 : villosités intestinales et lumière du tube digestif de *Tomocerus minor* élevé sur bentonite (période A). — Ph. 10 : villosités intestinales et lumière du tube digestif de *Tomocerus minor* élevé avec carré de feuille et sur bentonite (période C). — Ph. 11 et 12 : tissus sous-cuticulaires de *Tomocerus minor* envahis par les bactéries ; septicémie survenant chez les individus agonisants *(échelles en micromètres)*.



Pl. IV. — Ph. 13 : aspect du tube digestif rempli de feuillets d'argile chez *Tomocerus problematicus* élevé sur bentonite (période A). Ph. 14 : villosités intestinales et lumière du tube digestif vide chez *Tomocerus problematicus* en absence de bentonite (période D). — Ph. 15 : tissus de *Tomocerus problematicus* envahis par de nombreux procaryotes (période E) : septicémie caractéristique chez les individus moribonds. — Ph. 16 : contenu digestif avec des substances granuleuses et quelques bactéries chez *Tomocerus problematicus* en fin de cycle vital *(échelles en micromètres)*.

b) *Tomocerus problematicus.*

L'animal fixé le 24 avril 1980 après 42 jours d'élevage sur l'argile (période A) possède un tube digestif rempli de bentonite, comme le prouve la photo 13 (Pl. IV). Cette observation confirme celle du terrain où les formes cavernicoles de l'escalier et du puits terminal incorporent normalement des phyllosilicates à leur bol alimentaire (Pl. II, Ph. 7).

Au cours de la période D caractérisée par l'absence d'argile tous les animaux perdent du poids. Celui que nous avons fixé le 12 mai 1980 a montré un tube digestif pratiquement vide de tout contenu (Pl. IV, Ph. 14).

A la fin de la période E et après avoir vécu pendant 26 jours sur de la bentonite, les derniers Collemboles que nous avons examinés sont presque tous agonisants. Leur tube digestif contient des substances granuleuses associées à quelques bactéries (Pl. IV, Ph. 16). Comme tous les animaux en fin de cycle vital, leurs tissus sont envahis par de nombreux procaryotes (Pl. IV, Ph. 15). Cette infestation bactérienne avait déjà été constatée sur des individus moribonds de *Tomocerus minor.*

c) *Observations du milieu d'élevage en microscopie électronique.*

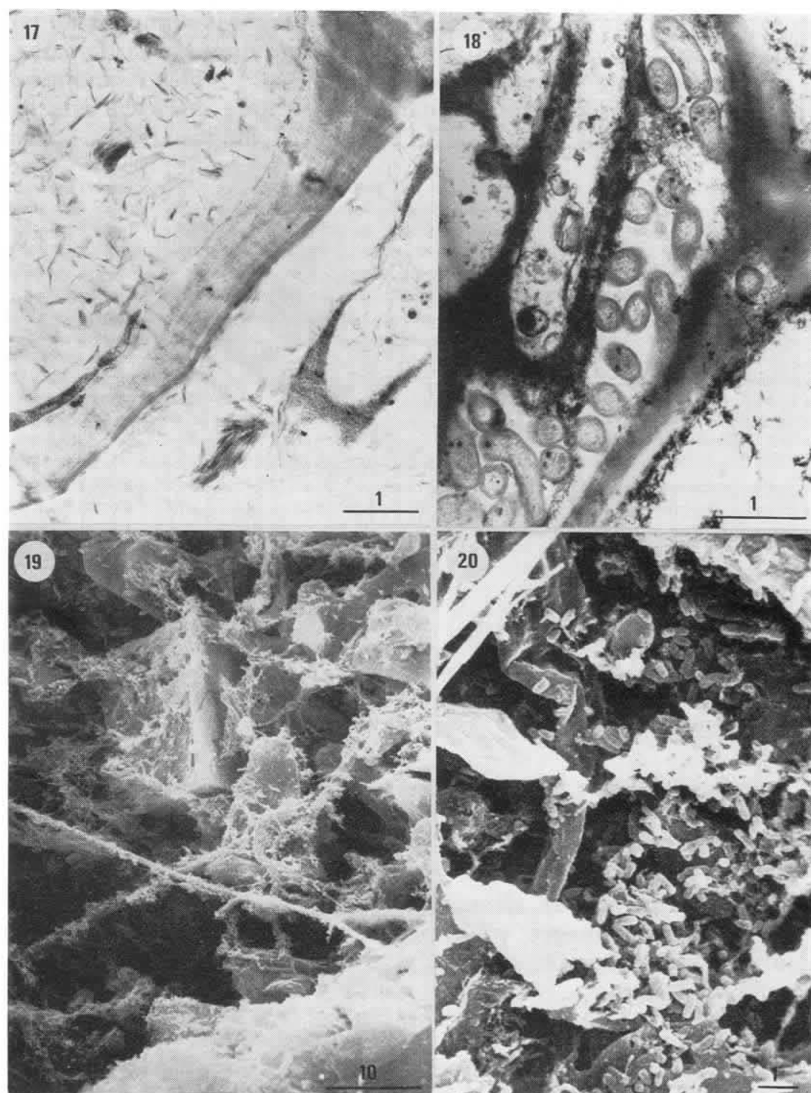
La bentonite apparaît sous la forme de feuillets de faible épaisseur, dispersés sans orientation au sein d'une matière amorphe. Au contact de la feuille de charme et sous l'action dilacératrice des animaux, l'argile se trouve intimement liée aux tissus végétaux (Pl. V, Ph. 17 et 19). Les parois et les espaces cellulaires sont envahis de bactéries (Pl. V, Ph. 18 et 20). Cette abondance exceptionnelle de procaryotes peut expliquer la contamination dont sont victimes les animaux à la fin de leur vie.

III. — **CONCLUSION**

Les deux espèces de Collemboles Tomoceridae vivant dans la grotte de Sainte-Catherine ont des régimes alimentaires différents. L'espèce épigée *Tomocerus minor* est fongivore à tendance organophagique (feuilles mortes), tandis que l'espèce troglobie *Tomocerus problematicus* est accessoirement fongivore mais à tendance géophagique (argiles). Au niveau de l'escalier où il existe un mélange des deux populations, l'espèce épigée et l'espèce cavernicole semblent partager les ressources alimentaires du milieu sans entrer en concurrence trophique, respectant ainsi la règle générale en écologie de la coexistence interspécifique (VANNIER, 1979).

Dans la salle 1 près de l'ouverture de la grotte, *Tomocerus minor* a accès à une nourriture variée, mais ses préférences alimentaires vont aux spores et aux filaments de champignons comme le prouvent les fortes concentrations d'animaux sur les débris ligneux riches en champignons saprophytes. Le pouvoir d'assimilation de l'espèce est renforcé par la présence de nombreuses bactéries dans le tube digestif dont l'activité lytique s'exerce sur les parois des champignons absorbés.

Dans la salle 3, au fond du puits, comme sur l'escalier de la grotte, *Tomocerus problematicus* ingère de grandes quantités d'argiles et participe ainsi



PL. V. — Ph. 17 et 19 : présence de feuillets d'argile à l'intérieur de cellule de la feuille de charme sous l'action dilacératrice des animaux (17 en M.E.T., 19 en M.E.B.). — Ph. 18 et 20 : nombreux procaryotes à l'intérieur du matériel foliaire (18 en M.E.T.) et à la surface de la feuille (20 en M.E.B.) *(échelles en micromètres)*.

activement à l'incorporation de la matière organique à la matière minérale, favorisant ainsi la biodégradation par voie bactérienne.

Les individus des deux espèces constituent de véritables réservoirs bactériens à la fin de leur vie. Ils contribuent ainsi à transporter des colonies de germes sur de nouveaux substrats en les contaminant par leurs cadavres.

Cette étude du régime alimentaire de deux espèces animales appartenant à la même lignée procède d'une analyse plus large dont les principales étapes ont été synthétisées sur le tableau de la figure 3. Ce tableau synoptique pose les véritables questions à résoudre dans toute étude des relations fonctionnelles microfaune-microflore du sol à l'échelon décomposeur des écosystèmes terrestres.

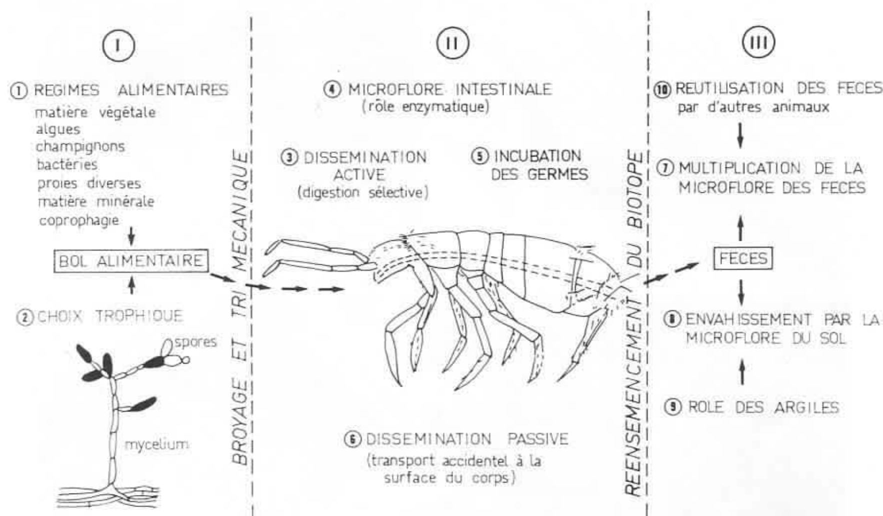


FIG. 3. — Tableau synoptique montrant les problèmes principaux à résoudre dans l'étude des relations fonctionnelles microflore-microfaune.

1. *Connaissance du régime alimentaire des animaux du sol :* microbivores (mycophages, bactériophages, phycophages), saprophages (matières végétales en décomposition), nécrophages (cadavres animaux), coprophages (matières fécales) et prédateurs.

2. *Choix trophique, appétence* : un microarthropode par exemple, peut rechercher de façon préférentielle un champignon donné ce qui correspond à la notion classique de choix trophique : cas de l'Acarien *Tyrophagus putrescentiae* et du champignon *Dendryphiella vinosa.* Mais une fois cette nourriture trouvée et si le couple Acarien-Champignon est compatible, l'animal effectue un choix trophique de deuxième ordre parmi les organes fongiques disponibles (fraction peu mélanisée, repousses, jeunes spores, etc...) (REISINGER, 1972).

3. *Dissémination active :* l'animal en choisissant sa nourriture opère une sélection parmi les germes présents. La partie non digérée et encore viable sera rejetée et concentrée dans les fèces.

4. *Microflore symbiotique :* une ou plusieurs souches bactériennes se développant dans le tractus digestif peuvent renforcer l'action des enzymes de l'animal.

5. *Incubation des germes :* A l'intérieur même de l'animal, il est possible que certains germes encore viables se multiplient dans ce milieu protégé et favorable que représente le contenu intestinal (humidité, pH).

6. *Dissémination passive :* les animaux transportent accidentellement des germes à la surface de leur corps recouvert par de nombreux poils ou écailles. Au cours de leurs déplacements, ils laissent derrière eux des traces à partir desquelles se développe une microflore du sol variée (CHRISTEN, 1975).

7. *Multiplication de la microflore dans les fèces :* la microflore rencontre dans les fèces un terrain très favorable pour se développer, puisqu'une partie des germes restent intacts au cours du transit intestinal (KILBERTUS et VANNIER, 1979).

8. *Envahissement des fèces par la microflore tellurique :* les germes extérieurs envahissent les fèces et s'installent secondairement dans les parties non complètement digérées. Cette contamination extérieure incite nombre d'animaux à effectuer une double ingestion. Phénomène d'autocoprophagie et notion de rumen selon CROSSLEY (1977).

9. *Rôle des argiles :* les animaux intègrent des parties minérales à leur bol alimentaire (VANNIER et KILBERTUS, 1981) ; les produits d'excrétion sont alors constitués d'un mélange organo-argileux propice au développement des bactéries et que l'on retrouve dans le sol sous la forme de microagrégats (ARPIN, KILBERTUS, PONGE, VANNIER, 1980).

10. *Réutilisation des fèces dans la chaîne trophique :* Les déjections contenant des substances imparfaitement digérées représentent une valeur énergétique pour d'autres animaux qui les ingèrent à leur tour en opérant une nouvelle sélection sur les microorganismes.

Ces problèmes étant posés, les solutions que nous avons retenues pour l'étude des relations fonctionnelles microflore-microfaune sont les suivantes :

— observation des animaux dans leur biotope naturel ;

— modélisation en laboratoire avec constitution d'élevage sur cultures pures fongiques ou bactériennes ;

— analyse en microscopie électronique du tube digestif au moyen de coupes ultrafines au niveau du thorax ou des parties antérieures (étude de la fraction du bol alimentaire avant digestion) et au niveau de l'abdomen ou des parties postérieures (étude de la fraction digérée) ;

— étude ultrastructurale des fèces non contaminées pour rechercher les germes encore viables et estimer les parties non assimilées.

Les techniques de microscopie électronique ont fait considérablement progresser nos recherches sur le régime alimentaire des représentants de la microfaune du sol. Même si son utilisation n'aboutit pas toujours à une détermination spécifique des microorganismes, elle a néanmoins le mérite de permettre la reconnaissance des algues, bactéries, champignons (mycélium, spores), particules végétales, argile, chitine, etc... qui constituent l'essentiel de la nourriture des saprophages. Elle permet en outre de saisir l'importance

des lyses très sélectives et ponctuelles, telles que l'utilisation préférentielle du protoplasme ou de certaines couches des parois cellulaires. Ce dernier atout est décisif dans l'analyse subtile du partage des ressources trophiques chez les animaux du sol dont le régime alimentaire n'est pas toujours très strict.

REMERCIEMENTS

Nous sommes heureux de remercier notre collègue biospéologue J.-M. THIBAUD, Sous-directeur au Muséum National d'Histoire Naturelle, de nous avoir guidé à l'intérieur de la grotte de Sainte-Catherine et d'avoir bien voulu participer à la récolte des animaux. Nos remerciements vont également à Monsieur DROGUE, Directeur du laboratoire souterrain du Centre National de la Recherche Scientifique et à Monsieur JUBERTHIE, Directeur de recherche, qui ont facilité nos travaux en mettant un local à notre disposition pendant toute la durée de notre séjour à Moulis (Ariège). Nous remercions Madame Catherine MASSON, dessinatrice de l'E.R. 204, qui a composé toutes les illustrations au trait de notre texte, et Mademoiselle Marie-Ange DELAMARE DEBOUTTEVILLE qui a dactylographié notre texte.

RÉSUMÉ

Les ressources alimentaires de la grotte de Sainte-Catherine (Ariège, France) ont été étudiées précédemment par KILBERTUS et SCHWARTZ (1981). Dans le présent article nous avons cherché à connaître le régime alimentaire de deux espèces de Collemboles vivant à l'intérieur de la grotte, depuis l'ouverture jusqu'à une profondeur de 80 mètres : *Tomocerus minor* (Lubbock), une espèce de surface qui vit à l'entrée de la grotte et *Tomocerus problematicus* Cassagnau, espèce troglobie qui n'a jamais été trouvée hors du domaine souterrain et qui vit dans les zones profondes de la grotte.

Nous avons utilisé le microscope électronique à balayage (M.E.B.) pour comparer la structure des fèces produites par les deux espèces et le microscope électronique à transmission (M.E.T.) pour analyser le contenu intestinal : *Tomocerus minor* est surtout fongivore à tendance organophagique, tandis que *Tomocerus problematicus* est de temps en temps fongivore et ingère de grandes quantités d'argile, de sorte que son régime alimentaire est plutôt géophage.

Une étude expérimentale a été menée au laboratoire pour vérifier la prise régulière d'argile chez les animaux vivant dans un contexte minéral.

SUMMARY

Food resources inside Sainte-Catherine cave (Ariège, France) have been previously investigated (KILBERTUS and SCHWARTZ, 1981). In this paper, we have studied the diet of two Collembolan species living inside the cave, from the aperture to the bottom at a depth of 80 m : *Tomocerus minor* (Lubbock), a surface-dwelling species, which is only occured near the cave entrance and *Tomocerus problematicus* Cassagnau, an obligate cave-dwelling species, which has been never seen outside the underground system, and is ordinary collected in the deepest cave networks.

Using scanning electron microscope (S.E.M.) to compare the fecal pellets structure produced by both species and transmission electron microscope (T.E.M.) to analyse gut contents, we have concluded that *Tomocerus minor* is mostly fongivorous and its dietary may be declared organophagic, while *Tomocerus problematicus* is occasionally fongivorous but ingests large amounts of clay so that its dietary is rather geophagic.

Both species meet in a same dark spot not far the cave entrance, but do not compete for the same food supply. These findings are in accordance with general ecological rule of interspecific coexistence.

An experimental study has been monitored in lab so as to prove regular clay ingestions from animals living in such a mineral environment.

10 *Tomocerus minor* and 10 *Tomocerus problematicus* individuals were kept in culture jars on clay substratum as Bentonite for one month; then clay was removed and animals were only fed with organic matter like yeasts or dead leaves. Clay was brought again into culture jars later on. Twice a week during 5 months the animal body weight was controlled and, at any change of feeding conditions, a specimen was killed and its gut content analysed under T.E.M. All the results go to prove that the cave-dwelling species is gaining or losing weight when clay is respectively brought or removed, while the surface-dwelling species is more concerned with plant food supply than in presence of clay.

BIBLIOGRAPHIE

ARPIN (P.), KILBERTUS (G.), PONGE (J.-F.) et VANNIER, (G.), 1980. — Importance de la microflore et de la microfaune en milieu forestier. In « *Actualité d'Écologie forestière, Sol, Flore, Faune* », P. Pesson, Gauthier-Villars, Paris : 87-150.

CHRISTEN (A. A.), 1975. — Some fungi associated with Collembola. *Rev. Ecol. Biol. Sol,* **12**: 723-728.

CROSSLEY (D. A.) Jr, 1977. — The role of terrestrial saprophagous arthropods in forest soils : Current status of concepts. In « *The role of arthropods in forest ecosystems* », W. J. Mattson ed., Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin : 49-56.

JOOSSE and VELTKAMP, 1970. — Some aspects of growth, molting and reproduction in five species of surface dwelling Collembola. *Neth. J. Zool.,* **20**: 315-329.

KILBERTUS (G.) and VANNIER (G.), 1979. — Microbial analysis and weight estimation of feces produced by four sympatric Collembola species in forest litter. *Rev. Ecol. Biol. Sol,* **16**: 169-180.

KILBERTUS (G.) et SCHWARTZ (R.), 1981. — Relations microflore-microfaune dans la grotte de Sainte-Catherine (Pyrénées Ariégeoises). I. Recherche des sources alimentaires. *Rev. Écol. Biol. Sol,* **18**: 305-317.

REISINGER (O.), 1972. — Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques Hyphomycètes à paroi mélanisée. Genèse, modification et décomposition. *Thèse de doctorat d'état, Université de Nancy,* n° C.N.R.S. AO 6237, 192 pages.

SOKOLSKI (S.), PICHE (Y.), REISINGER (O.) et KILBERTUS (G.), 1976. — Décomposition des spores de *Coprinus atramentarius* Bull. ex. Fries enfouies dans le sol. Étude ultrastructurale. *Revue de Mycologie,* **40**: 43-50.

THIBAUD (J.-M.), 1977. — Intermue et température léthales chez les Insectes Collemboles Arthropléones. III. Isotomidae, Entromobryidae et Tomoceridae. *Rev. Écol. Biol. Sol,* **14**: 267-278.

THIBAUD (J.-M.) et VANNIER (G.), 1978. — Relations entre les tailles, les biomasses, les teneurs en eau et en lipides chez deux espèces de Collemboles selon leur répartition dans la grotte de Sainte-Catherine (Ariège, France). *Rev. Écol. Biol. Sol,* **15**: 89-101.

THIBAUD (J.-M.), 1980. — Croissances pondérale et linéaire chez les Insectes Collemboles. *Rev. Écol. Biol. Sol,* **17**: 405-418.

VANNIER (G.), 1966. — Loge de mue d'un nouveau type construite par un Diplopode africain. *Rev. Écol. Biol. Sol,* **3**: 241-258.

VANNIER (G.), 1977 a. — Water relationships in two species of Tomoceridae (Insecta, Collembola), a cave-dwelling species and a top soil layer species. *Rev. Ecol. Biol. Sol,* **14**: 31-35.

VANNIER (G.), 1977 b. — Relations hydriques chez deux espèces de Tomoceridae (Insectes Collemboles) peuplant des niveaux écologiques séparés. *Bull. Soc. Zool. Fr.,* **102**: 63-79.

VANNIER (G.), 1979. — Relations trophiques entre la microfaune et la microflore du sol ; aspects qualitatifs et quantitatifs. *Boll. Zool.,* **46**: 343-361.

VANNIER (G.) et KILBERTUS (G.), 1981. — Participation des Insectes Collemboles et des Microorganismes telluriques aux processus de migration des substances organo-minérales. *Coll. Intern. C.N.R.S. n° 303 « Migrations organo-minérales dans les sols tempérés »*, Nancy, Sept. 1979. Ed. C.N.R.S., Paris : 133-144.

VANNIER (G.) et VERDIER (B.), 1981. — Critères écophysiologiques (transpiration, respiration permettant de séparer une espèce souterraine d'une espèce de surface chez les Insectes Collemboles. *Rev. Écol. Biol. Sol* (à paraître).